

DIE BLUTFORM VON BABESIA CANIS IM HUND.
MIKROMORPHOLOGIE VON TROPHOZOITEN,
MEROZOITEN UND INTERMEDIÄRFORMEN
VOR UND NACH THERAPIE MIT OXOPIRVEDINE^R
UND BERENIL^R

GÜNTHER BRENGELMANN

—

1977

—



Digitized by the Internet Archive
in 2026

Aus dem Institut für Vergleichende Tropenmedizin
und Parasitologie des Fachbereichs Tiermedizin der

Universität München

Vorstand: Prof. Dr. Dr. h.c. J. Boch

Die Blutform von Babesia canis im Hund.

Mikromorphologie von Trophozoiten, Mero-

zoiten und Intermediärformen vor und nach

Therapie mit Oxopirvedine^R und Berenil^R

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung der tiermedizinischen Doktorwürde
des Fachbereichs Tiermedizin
der Ludwig-Maximilians-Universität München

von

Günther Brengelmann

aus

Langenberg im Rheinland

München 1977

Gedruckt mit Genehmigung des Fachbereichs Tiermedizin
der Universität München

Dekan:	Prof. Dr. B. Vollmerhaus
Referent:	Prof. Dr. Dr. h.c. J. Boch
Korreferent:	Prof. Dr. A. Petter

Tag der Promotion: 25. Februar 1977



MEINEN ELTERN IN DANKBARKEIT GEWIDMET

Inhaltsverzeichnis	Seite
I. Einleitung	1
II. Biologie und Ultrastruktur von Babesien sowie Wirksamkeit und Wirkungs- mechanismen von Babesiciden (anhand der Literatur)	2
III. Eigene Untersuchungen	12
A. Material und Methoden	
B. Ergebnisse	15
1. Klinische Beobachtung der infizierten und therapierten Hunde	
2. Ultrastruktur von Babesia canis	
3. Ultrastruktur von Babesia canis nach Therapie mit Oxopirvedine ^R	
4. Ultrastruktur von Babesia canis nach Therapie mit Berenil ^R	
IV. Besprechung der Ergebnisse	33
V. Zusammenfassung	42
Summary	44
VI. Literaturverzeichnis	46
Lebenslauf	

I. Einleitung

In der Vergangenheit wurden zahlreiche Chemotherapeutika auf der Basis der aromatischen Diamidine als Babesizide entwickelt und in vielen klinischen Tests auf ihre Wirksamkeit hin überprüft. Über den eigentlichen Wirkungsmechanismus der Präparate auf den Parasiten selbst liegen wenige Untersuchungen vor.

Es sollte in der vorliegenden Arbeit versucht werden, mit Hilfe elektronenoptischer Untersuchungen die Zellveränderungen und das Vorkommen bestimmter Babesien-Entwicklungsstufen nach Babesizidexpositionen darzustellen. Als Modell dazu diente uns *Babesia canis*, dessen Bedeutung als Erreger der Hundebabesiose in Westeuropa ebenfalls zunimmt. Die nach experimenteller Infektion erkrankten Beagle-Hunde wurden mit Berenil^R bzw. Oxopirvedine^R (Spécia) behandelt.

II. Biologie und Ultrastruktur der Babesien sowie Wirksamkeit und Wirkungsmechanismen von Babesiziden (anhand der Literatur)

Die Infektion mit Babesia canis erfolgt unter natürlichen Bedingungen durch die Zeckenarten, Rhipicephalus sanguineus, Dermacentor reticulatus und Haemaphysalis leachi.
(REICHENOW, 1935/36).

Die Hundebabesiose tritt vor allem in tropischen und subtropischen Gebieten, aber auch in den gemäßigten Zonen der Erde auf. JACQUIER (1974) wies die Erkrankung sowohl bei Hunden, die aus Spanien und Südfrankreich eingeführt wurden, als auch erstmals bei einem Tier, welches das Schweizer Gebiet des Genfer-Sees niemals verlassen hatte, nach. Im Gegensatz zu den bei anderen Tierarten vorkommenden Babesien ist B. canis wirtsspezifisch. Übertragungsversuche gelingen nur auf artverwandte Tiere. NEITZ und STEYN (1947) konnten Schakale, SCHOOP und DEDIÉ (1938) Silberfuchse infizieren.

B. Canis tritt in den roten Blutkörperchen als runde Einzelform mit einem Durchmesser von 2-4 μm oder als Zwillingsform von birnenförmiger Gestalt und 4-5 μm Länge (BAYER und DENNIG, 1961) auf.

Das Krankheitsbild der Hundebabesiose wird gekennzeichnet durch einen Anstieg der Körpertemperatur, Apathie, Anorexie, beschleunigte oberflächliche Atmung, blasse Schleimhäute, Anämie, Hämoglobinämie und Ikterus (MAEGRAITH 1957). Nach Angaben von RYLEY (1957)

wird Hämoglobinurie nur selten und nur meist kurz vor dem Tod betrachtet. Cerebrale Störungen, die mit Ataxien einhergehen können, beschreiben REUSSE (1954) und BOTHA (1964). Einen atypischen Verlauf der *B. canis*-Infektion (Augenform mit ulzeröser und interstitieller Keratitis) schilderte JAQUIN (1963).

Skrabalo und Deanovic (1957), FITZPATRICK und M. (1968, 1969) sowie GARNHAM und M. (1969) beschrieben Babesien-erkrankungen beim Menschen. Bei splenektomierten Patienten können Infektionen mit *B. bovis* und *B. divergens* zum Tode führen. Im Jahre 1965 isolierten SHORTT und BLACKIE aus dem Maulwurf einen Babesienstamm, mit welchem sich ein splenektomierter Rhesus-Affe infizieren ließ. MAC. MILLAN und BROCKLESBY (1971) bezeichnen Babesien als Zoonose-Erreger. FAY und RAUSCH (1969) fanden in England Piroplasmen in kleinen Nagetieren. Über ähnliche Erfahrungen in der Schweiz berichten AESCHLIMANN und M. (1975). Über die Form der Vermehrung existierten lange Zeit verschiedenartige Auffassungen. REGENDANZ und REICHENOW (1933) stellten fest, daß sich die Babesien durch asexuelle Zwei- oder Vierteilung fortpflanzen. Die Vorgänge der Teilung beschrieben KREIER und M. (1975) an Hand elektronenoptischer Untersuchungen an *B. rodhaini* und *B. microti*. Merozoiten entstehen aus Trophozoiten durch Knospung. Die Bildung des Pellikula-Komplexes gilt als Anzeichen einer beginnenden Teilung. Jeder Parasit bildet einen, zwei oder vier Abkömmlinge zur gleichen Zeit aus (RUDZINSKA und TRAGER, 1974 a). Über die Nahrungsaufnahme der Babesien besteht

Unklarheit. RUDZINSKA (1976) stellte verschiedenartige Möglichkeiten zur Diskussion. Haemozin, ein Abbauprodukt des Haemoglobins, fehlt im Gegensatz zu den Malaria-Erregern den Babesien. Sie folgert, daß die von RUDZINSKA und TRAGER (1962), HOYTE (1966), sowie DENNIG und HEBEL (1969) als Nahrungsvakuolen bezeichneten Gebilde keine echten Vakuolen für die Nahrungsaufnahme sind. Es handele sich um Invaginationen, die von Erythrozytenstroma ausgefüllt sind. Mit dem Erregerzytoplasma stehen sie in keinem Kontakt. RUDZINSKA (1976) schreibt die Nahrungsaufnahme sogenannten "coiled membranous organells" zu. Es handelt sich um haarzopfartige aufgerollte membranöse Organellen. Sie vermutet, wie auch LANGRETH (1976), daß die "coiled membranous organells" Enzyme enthalten. So können sie die Erregeraußenmembran durchdringen, um im Erythrozytenstroma Nahrung aufzunehmen. Bei RUDZINSKA (1976) gelten Rhoptrien und Mikronemen, im Gegensatz zu KREIER und M. (1975), nicht als Penetrationsorganellen. Sie sieht diese im Zusammenhang mit dem Golgi-Apparat.

Systematisch stellten DOFLEIN und REICHENOW (1929) die Babesien als Anhang zu den Sporozoen. PIEKARSKI (1954) faßte sie und die Theilerien zu Hämamöben zusammen. Im Jahre 1961 ordnete sie LEVINE wieder den Sporozoen zu, während HONIGBERG und M. (1964) sie den Sarcocystidophora zuordneten.

Der dritte internationale Protozoologie-Kongress in Leningrad 1969 legte endgültig fest, daß Protozoen nach elektronenoptisch sichtbaren Strukturen systematisch einzuordnen sind. Sie verbleiben also in der Gruppe der Sporozoen und in der Untergruppe Apikomplexa (LEVINE, 1971), insbesondere auf Grund der Arbeiten von BÜTNER (1968), FRIEDHOFF und SCHOLTYSECK (1968) sowie SCHOLTYSECK,

MEHLHORN und FRIEDHOFF (1970).

Die ersten ultrastrukturellen Untersuchungen an Babesien führten FLEWETT und FULTON (1959) an *Babesia rodhaini* durch. Sie treffen die Aussage, daß der Erreger im Erythrozyten, nicht auf dessen Umwandlung liegt. Bei REICHENOW (1954) war noch die Meinung vorherrschend, daß der Parasit erst nach seiner Vermehrung in das rote Blutkörperchen eindringt. FULTON und FLEWETT die 1956 bereits *Plasmodium knowlesi* und *berghei* elektronenoptisch untersuchten, stellen fest, daß *Babesia rodhaini* den beiden Plasmodien-Spezies sehr ähnlich ist.

Von BAYER und DENNIG (1961) wurde die Ultrastruktur von *B. canis* untersucht. Sie weisen ein endoplasmatisches Retikulum nach. Eine doppelte Kernmembran läßt sich bereits darstellen. Die Begrenzung des Parasiten gegenüber dem Erythrozytenstroma des Wirtes kommt nicht genau zur Aufzeichnung. Nur stellenweise ist eine Linie angedeutet. BÜTTNER (1968) untersuchte die Ultrastruktur von *B. gibsoni* und *B. canis* und beschrieb erstmals an *B. canis* das Intratorium, bestehend aus Rhoptrien, Mikronemen und Polring. Er unterscheidet zwischen Trophozoiten und Teilungsformen.

Lange Zeit wurde nicht zwischen Trophozoiten und Merozoiten unterschieden, deshalb ist teilweise von unterschiedlichen Angaben über die Grenzmembranen zwischen Wirt und Parasit die Rede. So heben RUDZINSKA und TRAGER (1962) eine Grenzmembran, SIMPSON und M. (1963/1967) sowie HOYTE (1966) zwei Grenzmembranen hervor. Mitochondrien und Golgi-Apparate gelangten nicht zur Darstellung. Die von einer Doppelmembran umgebenen Mitochondrien zitierten jedoch DENNIG und HEBEL (1969) an *B. felis*.

Einen Zellkern, der von zwei Kernmembranen umschlossen ist, stellen sämtliche Autoren dar. Unterschiede bestehen lediglich in der Angabe der Kernporengröße. MOLYNEUX und BAFORT (1970) geben eine geringere Breite an, als DENNIG und HEBEL (1969). Die Blutformen der Babesien besitzen im Gegensatz zu Plasmodien kein Conoid oder Cytostom, wie es AIKAWA (1967) für *Plasmodium fallax* schilderte. FRIEDHOFF und SCHOLTYSECK (1968) beschrieben conoid - und cytostomähnliche Strukturen an *B. ovis* - Trophozoiten im Ovar von *Rhipicephalus bursa*, ebenso wie FRIEDHOFF und M. (1972) bei *B. ovis* in den Speicheldrüsen weiblicher Zecken. Diese Strukturen bilden den Apikalkomplex der Babesien-Merozoiten. Merozoiten von Babesien und Plasmodien ähneln sich sehr. Die Untersuchungen von BÜTTNER (1968), SCHOLTYSECK und M. (1970) sowie RUDZINSKA und TRAGER (1974 b) unterstreichen die Aussage, daß Merozoiten von Babesien einen Apikal- und Pellikularkomplex besitzen.

Nach den Untersuchungen von KREIER und M. (1975), RUDZINSKA (1976) sowie GÖBEL und DENNIG (1976) haben Trophozoiten und Merozoiten von Babesien bestimmte Strukturen. Die Trophozoiten sind von einer einfachen Membran umgeben. Sie besitzen Invaginationen verschiedener Größe und einen von zwei Kernmembranen umschlossenen polymorph geformten Zellkern. Endoplasmatisches Retikulum, Mitochondrien und Ribosomen sind über das gesamte Parasitenzytoplasma verteilt. Apikal- und Pellikularkomplex sind die Charakteristika der Merozoiten. Sie sind oval bis piriform. Eine äußere Elementarmembran und eine darunter liegende dickere, oftmals unterbrochene innere Membran, ergeben die Umhüllung des Parasiten. Die innere Membran gleicht in ihrem Aufbau der von AIKAWA (1967) beschriebenen Membran von *Plasmodium fallax*.

SEED und M. (1973) zeigten das von AIKAWA (1967) dargestellte Kükendrahtmuster der inneren Membran von Plasmodien auch an Babesien. GÜBEL (1976) erhärtete die Feststellung mit Hilfe der Gefrierätzmethode an *B. muscui*. Am apikalen Pol der Merozoiten bildet die innere Membran eine Verdichtung, den Polring. In diesem Bereich ist der intermembranöse Spalt verbreitert. Der Kern befindet sich zumeist im hinteren Drittel der Zelle.

Der sphärische Körper, von SCHOLTYSECK und M. (1970) entdeckt, liegt allgemein seitlich vor dem Kern. Sein Plasma ist feinblasiger und elektronendichter als das Karyoplasma.

Die Rhoptrien, von MOLYNEUX und BAFORT (1970) als paired-organelles beschrieben, und die Mikronemen, von FRIEDHOFF und SCHOLTYSECK (1968) als Toxonemem bezeichnet, liegen im Apex der Merozoiten.

Über die Verwendung von Babesiziden, insbesondere von Berenil^R (4-4'-Diamidino-diazo-amino-benzol) einem aromatischen Diamidin, liegt eine umfangreiche Literatur vor. Es hat sich als wirksames Chemotherapeutikum bei Trypanosomen- und Babesieninfektionen erwiesen.

Therapie-Versuche an *B. canis*-Infektionen führte BAUER (1955, 1966) durch. Eine Resistenz der Babesienstämme gegen BERENIL^R entwickelte sich selbst nach mehrmaliger Applikation nicht. Die prophylaktische Wirkung von Berenil^R ist als gering anzusehen (ENIGK und REUSSE, 1955). Das Präparat zeichnet sich durch eine rasche Resorbierbarkeit aus. Die Ausscheidung erfolgt über die Nieren. Nach FUSSGÄNGER und BAUER (1958) ist nach 24 Stunden der größte Teil des Medikamentes aus dem Organismus eliminiert. Eine Dosis von 0,2 - 0,5 mg/Kg/Kgw. reicht laut WEINMANN und RISTIC (1968) aus. Zur voll-

ständigen klinischen Heilung erweist sich die Applizierung von 3,5 - 5 mg/Kg/Kgw. einer 7 %igen Lösung als günstige Dosierung (firmeneigene Angabe-Hoechst). Gaben von über 10 mg/Kg/Kgw. sollen mit Sicherheit eine Ausheilung bewirken. Doch kann dies zur Ausbildung von toxischen, zentralnervösen Störungen führen (BAUER, 1967). BARNETT (1965) überprüfte die Wirkung mehrerer Chemotherapeutika an *B. bigemina*-Infektionen der Rinder. Durch einmalige Gabe von 5 mg/Kg/Kgw. Berenil^R kam es zur sterilisatio magna. Bei Verwendung von Pirvedine^R 8-13,5 mg/Kg bildete sich bei den Tieren eine Prämunität aus.

FOWLER und M. (1972) untersuchten die Anwendungsmöglichkeiten von Chloroquin, Primaquin, Acaprin^R (Bayer), Berenil^R und Pirvedine^R an mit *B. gibsoni* infizierten Hunden. Chloroquin, Primaquin sowie Acaprin^R zeigten keine Wirkung. In hohen Dosierungen waren Chloroquin und Primaquin toxisch, und verursachten zentralnervöse Störungen. Die besten Ergebnisse erzielten sie mit Pirvedine^R und Berenil^R 11 mg/Kg/Kgw. Berenil^R führte bereits einen Tag nach Therapiebeginn zu einer sichtbaren Besserung des Allgemeinzustandes. Es bildete sich eine Prämunität aus, wobei gesunde Kontrollhunde nach Inokulation von Blut der behandelten Tiere erkrankten. NEWTON (1971) beschrieb, daß Berenil^R eine hohe Affinität zur Kern - DNS aufweist und die Bildung von extranukleärer DNS in den Mitochondrien verhindert. Der Wirkungsmechanismus ist noch unbekannt.

Ein weiteres sehr bewährtes Chemotherapeutikum bei der Hundebabesiose ist das Oxopirvedine^R (Spécia), ein
4.4 - Diamidino - diphenyläther, dem als

Antihistaminikum Oxomemazine zugesetzt ist.

Jede Ampulle enthält 150 mg Phenamidin und 10 mg Oxomemazine. Phenamidin ist die Wirksubstanz gegen Trypanosomen- und Babesieninfektionen. Ohne den Zusatz von Oxomemazine hieß das Medikament Pirvedine^R. Oxopirvedine^R wird in einer Dosierung von 15 mg/Kg/Kgw. appliziert (firmeneigene Angaben).

VAN DER WALT (1960) berichtete über die Anwendung von Pirvedine^R bei *B. canis*-Infektionen. Die ausgezeichnete klinische Wirksamkeit, ohne das Auftreten von Nebenwirkungen, zeichnet das Präparat aus. Die besten Ergebnisse wurden nach Applikation von Pirvedine^R unter Hinzufügung unterstützender Maßnahmen wie Bluttransfusionen, Leberschutztherapie und Blutstillungsmitteln erzielt. Die gleichen Erfahrungen machten GROVES und VANNIASINGHAM (1970) bei der Behandlung von natürlich und künstlich infizierten Hunden mit *B. gibsoni*. Auch JACQUIER (1967, 1973) verwies auf die gute Wirksamkeit von Pirvedine^R ohne Nebenwirkungen.

Schwellungen, trockene Nekrosen, Eiterungen an der Injektionsstelle, Unterhautoedeme, Urämien beschrieben MEYNARD (1963) bei der Hundebabesiose und KIRKHAM (1969) bei der Pferdebabesiose nach Behandlung mit Pirvedine^R. Jedoch wiesen auch diese Autoren auf den ausgezeichneten Therapieeffekt hin. Um die obengenannten Komplikationen zu verhindern, setzte der Hersteller dem Pirvedine^R das Antihistaminikum Oxomemazine zu. Daraus resultiert das neue Chemotherapeutikum Oxopirvedine^R. Die beiden genannten Medikamente Pirvedine^R und Berenil^R wurden von MAEGRAITH und GILLES (1971) bei Trypanosomenerkrankungen des Menschen als Therapeutika beschrieben. Berenil^R-Injektionen in einer Dosierung von 2 mg/Kg/Kgw. i.m. über

einen Zeitraum von 7 - 10 Tagen zeigen eine gute Wirkung. Die Applikation von Pirvedine^R bringt eine Histaminausschüttung (Hypotension) mit sich.

MARKELL und VOGE (1971) empfahlen, bei Versagen von Antimalaria-Mitteln wie Chloroquin^R, bei menschlichen Babesienerkrankungen Phenamidine. Eine so umfangreiche Literatur, wie bei Berenil^R, liegt über die Phenamidine nicht vor.

Bis vor wenigen Jahren fehlten Untersuchungen über den Einfluß von Chemotherapeutika auf die Mikromorphologie der Babesien. HEBEL und DENNIG (1969) überprüften den Wirkungsmechanismus von Berenil^R auf *B. herpailuri*. Dies ist zugleich die erste Arbeit, die sich mit ultrastrukturellen Veränderungen nach einer Therapie befaßt. In der Folgezeit versuchten DENNIG und HEBEL (1974) den Einfluß von Acaprin^R, einem Chinolin-Derivat, an *B. herpailuri* zu erhellen. GÜBEL und DENNIG (1976) untersuchten die Ultrastruktur der Trophozoiten und Merozoiten von *B. herpailuri* in den Erythrozyten der Hauskatze nach Behandlung mit Imidocarb (3,3'-bis-2-imidazolin-2-yl-carbanilid). Die Besonderheit dieser Arbeit liegt darin, daß zum ersten Mal eine genaue Unterscheidung in Trophozoiten und Merozoiten vorgenommen wird.

HEBEL und DENNIG (1969) beschrieben den Einfluß des Berenil^R auf den Feinbau und die Zytomembranen. Bereits nach 30 Min. kam es zu einer Erweiterung der membranbegrenzenden Systeme. Das endoplasmatische Retikulum und der Kernspalt verbreitern sich. Nach wenigen Stunden stellen sich die Membranen nurmehr undeutlich oder verwaschen dar. Das Erythrozytenstroma weist keine Veränderungen auf, der Kern wird aufgelöst.

Kernzerfall als erste Stufe der mikromorphologischen Veränderungen beobachteten DENNIG und HEBEL (1974) bei Anwendung von Acaprin^R an der gleichen Babesienart. Erst danach kommt es zur Degeneration der Membransysteme. Im Gegensatz hierzu bewirkt das Imidocarb nach Untersuchungen von GÖBEL und DENNIG (1976) zuerst eine Ausweitung der Schläuche des subpelliculären endoplasmatischen Retikulums, des Kernspaltes und der Mitochondrien bei den Trophozoiten. Die Veränderungen an den Merozoiten erfolgen später. Eine Auflösung der Zellmembranen und Zellkerne wurde nicht beobachtet. HOWELLS und M. (1970) beschreiben einen ähnlichen Effekt bei Plasmodium berghei. Als Chemotherapeutika verwendeten sie Primaquin und Menoctone. In ähnlicher Weise vollzieht sich die Überprüfung von Clindamycin und seinem N-dimethyl-4 -pentyl-Analog an Plasmodium knowlesi. Die ersten sichtbaren Veränderungen sahen POWERS und M. (1976) an den Ribosomen und am endoplasmatischen Retikulum (ER). Die nachfolgenden Alterationen am Kern sind zweitrangig im Vergleich zu den Veränderungen an den Ribosomen und am endoplastischen Retikulum. Die in diesen Arbeiten beschriebenen Zellschäden stimmen eher mit den Befunden von GÖBEL und DENNIG (1976) überein als mit den Beobachtungen von HEBEL und DENNIG (1969) sowie DENNIG und HEBEL (1974).

Untersuchungen über ultrastrukturelle Veränderungen an Babesien nach Oxopirvedine^R-Exposition waren bisher noch nicht durchgeführt worden.

III. EIGENE UNTERSUCHUNGEN

A. Material und Methoden

Als Versuchstiere dienten Beagles aus institutseigener Zucht (Gewicht 11,7 - 18,8 kg). Die Hunde befanden sich zur Zeit der Infizierung in einem guten Gesundheitszustand. Sie waren frei von Ekto- und Endoparasiten. Sie wurden mit Altromin-H, Milch und Wasser gefüttert.

Parasitenstamm

Babesia canis-haltiges Blut von einem prämunen Hund erhielten wir vom Institut für Parasitologie und Tropenveterinärmedizin der Freien Universität Berlin. Die Parasitämie betrug 1‰.

Einteilung der Versuchstiere

10 weibliche Versuchshunde gleichen Alters und Rasse wurden in 2 Gruppen eingeteilt: Gruppe 1, bestehend aus 6 Hunden diente als Kontrollgruppe. Mit ihr gelang es durch schnelle Passagen, das heißt Übertragung von parasitenhaltigem Blut von Hund zu Hund, die Virulenz des Erregers zu steigern, wobei die Parasitämie jeweils 1‰ betrug. Den klinischen Verlauf der Babesiose verfolgten wir. Bei perakutem Verlauf konnte mit symptomatischer Therapie (Vit.B-Komplex, Myofer^(R) (Hoechst), Methiovertan (Asid) und Procain-Penicillin-Dihydrostreptomycin) immer eine vorübergehende Besserung des Allgemeinbefindens erzielt werden. Gruppe 2, bestehend aus 4 Hunden diente der elektronenoptischen Untersuchung des Einflusses von Berenil^R und Oxopirvedine^R auf die Parasiten. Hierzu wurden diese Hunde mit 10 ml Frischblut, dem Heparin (Vetren^R, Promonta) als Antikoagulans hinzugesetzt war, von dem

6. Hund der Gruppe 1 (Parasitämie 1%) durch i.v. Injektion in die Vena saphena infiziert. Je 2 dieser Hunde behandelten wir bei einer Parasitämie von 30% bzw. 200% mit 4,2 mg/Kg/Kgw. Berenil^R (Hoechst) in Aqua bidest als 7% Lösung i.m. bzw. mit 10 ml Oxopirvedine^R (Spécia) s.c. (entspricht 15 mg/Kg/Kgw. Phenamidine + 1 mg/Kg/KGW. des Antihistaminikums Oxomemazine).

Zur Bestimmung der Parasitämie dienten täglich angefertigte Blutaussstriche, die mit Giemsa-Lösung gefärbt wurden. Das Kapillarblut entnahm man aus dem rasierten und desinfizierten lateralen Ohrrand. Bei 1000-facher Vergrößerung und mäanderförmiger Durchmusterung der Präparate ermittelte man die Anzahl der parasitierten roten Blutkörperchen pro 1000. Der Infektionsgrad des Einzelerythrozyten blieb dabei unberücksichtigt.

Die Erythrozytenzählung erfolgte nach üblicher Methode in der Thoma-Zählkammer.

Die klinische Untersuchung schloß sich täglich an die Anfertigung der Blutaussstriche an.

Elektronenoptische Präparation

Nach 15, 30, 45, 60, 90, 120, 150, 180 Min., sowie stündlich bis 48 Stunden nach der Therapie wurden Blutaussstriche angefertigt und für die elektronenoptische Präparation aus dem lateralen Ohrrand fünf Tropfen Blut, ohne Hinzufügung eines Antikoagulans, direkt in eisgekühltes 3%iges Glutardialdehyd in 0,05 M, Natriumcacodylat-Puffer (pH-7,2) gegeben. An die Fixationszeit von einem Tag bei 4 °C schloß sich die Zentrifugation von 5 Min. Dauer bei 2000 Upm an. Hierauf wurde das

Fixativ dekantiert und das Sediment viermal in Cacodylat-Puffer gewaschen. Die Nachfixierung geschah mit 1%igem Osmiumtetroxid ($\text{pH}=7,2$) in Dalton-Puffer für 60 Min. bei 4°C . Sodann erfolgte die Entwässerung der Proben in aufsteigender Alkoholreihe und Propylenoxid in der Reihenfolge, Alkohol 50%ig (3x), Alkohol 70%ig mit dem Zusatz von 1% Uranylacetat (1x), zur Zwischenkontrastierung der Proben. Es schloß sich die weitere Entwässerung in 90%igem Alkohol (1x), in absolutem Alkohol (2x) und in Propylenoxid (2x) an. Zwischen den einzelnen Entwässerungsstufen wurden die Proben jeweils resuspendiert und anschließend 5 Min. bei 2000 Upm zentrifugiert. Alle Schritte bis zur Entwässerung im absoluten Alkohol wurden bei 4°C vorgenommen. Die weitere Behandlung der Proben erfolgt bei Raumtemperatur. Als Einbettungsmedien verwendeten wir Durcupan ACM (Fluka) und das Einbettungsmedium nach SPURR (1969). Die Polymerisation bei Durcupan beträgt 48 h bei 60°C , beim Einbettungsmedium nach Spurr 12 h bei 70°C . Die Ultradünnschnitte wurden auf einem Porter-Blume-Mikrotom MT-1 angefertigt. Die verwendeten Glasmesser brach ich mit Hilfe eines LKB - Knife-Makers. Die Ultradünnschnitte kontrastierten wir mit Uranylacetat und Bleicitrat (REYNOLDS, 1963). Die von den Ultradünnschnitten mit einem Elmiskop 101 (Siemens) hergestellten Abbildungen werteten wir aus.

B. Ergebnisse

1. Klinische Beobachtungen

Die vier Hündinnen der Gruppe 2 befanden sich zum Zeitpunkt der Therapie in einem sehr schlechten Allgemeinzustand. Die Körpertemperaturen betrugen zwischen $40,0^{\circ}\text{C}$ und $41,5^{\circ}\text{C}$. Die sichtbaren Schleimhäute waren porzellanfarben, als Ausdruck der starken Anämie. Die Erythrozytenzahlen schwankten zwischen 1,3 Mio - 5,5 Mio/mm³.

Eine oberflächliche, sehr frequente Atmung zeichnete die Tiere aus. Zwei der Hündinnen zeigten einen Tag nach der Behandlung eine leichte Hämoglobinurie. Die Auskultation der Lungen ließ feuchte Rasselgeräusche erkennen. Die Parasitenzahl zum Zeitpunkt der Medikamentenapplikationen lag zwischen 30 ‰ und 200 ‰. Den Höchstwert erreichte eine Hündin mit 402 ‰ 4h nach Oxipirvedine-Gabe.

Bei allen 4 Hunden nahm die Parasitenzahl nach 36 Stunden wieder ab, so daß nach 3 - 5 Tagen keine Babesien mehr nachzuweisen waren. Ein Rezidiv trat jedoch in jedem Falle auf. Bei einer nicht perakut verlaufenden Babesiose kommt es zu einem vermehrten Auftreten von Retikulozyten, die teilweise mit Babesien befallen waren. Sie ließen sich auch elektronenoptisch nachweisen. In einem roten Blutkörperchen können sich bis zu 16 Erreger befinden. Es handelt sich dabei um ähnliche Formen, wie sie von SIMPSON und M. (1963) beschrieben wurden. Malteser-Kreuzformen, wie DENNIG und HEBEL (1968) an *Babesia felis* beobachteten, treten ebenfalls bei *Babesia canis* auf. Die Morphologie von *Babesia canis* kann mit

geringen Abweichungen mit der anderer Babesien-spezies verglichen werden. Die Form und Größe (2 - 5 μ m) stimmte mit den Angaben von SIMPSON und M. (1963) und BÜTTNER (1968) überein.

Eitrige Konjunktivitiden, ulzeröse Keratitiden, Ascites, zentralnervöse Störungen, Laryngobronchitiden und starke Hämoglobinurien gelangten bei Kontrollhunden (Gruppe 1) zur Beobachtung. Die Besserung im Allgemeinbefinden der Versuchshunde (Gruppe 2) setzte am zweiten Tage nach der Therapie mit Oxopirvedine^R und Berenil^R ein. Sie stimmte überein mit dem Abfall der Parasitämien. Drei Tage nach der Therapie nahmen Pulsfrequenz und Temperatur physiologische Werte an. Die Freßlust und Lebhaftigkeit der Tiere waren zu diesem Zeitpunkt nicht mehr beeinträchtigt.

2. Ultrastruktur von Babesia canis

Die Kontrollaufnahmen ergeben eindeutige ultrastrukturelle Unterschiede zwischen Mutter- und Tochterzellen. In dieser Arbeit werden die verschiedenartigen Entwicklungsformen von Babesia canis als Trophozoiten, Merozoiten und intermediäre Formen bezeichnet.

Für die im Text enthaltenen Abbildungen gelten nachfolgende Abkürzungen:

AM:	äußere Membran	IM :	innere Membran
AP:	apikaler Pol	IV :	Invagination
DR:	Ductuli der Rhoptrien	ImS:	intermembranöser Spalt
EM:	Erythrozytenmembran	KP :	Kernporen
ER:	endoplasmatisches Retikulum	M :	Merozoit
G :	Golgi-Apparat	MI :	Mitochondrium

MN:	Mikronemen	S :	Kernspalt
N :	Kern	SK:	sphärischer Körper
P :	Polring	T :	Trophozoit
R :	Ribosomen	V :	Vakuole
RH:	Rhoptrien	WZ:	Wirtszelle

Die Trophozoiten (Abb. 1) zeichnen sich durch eine einfache Elementarmembran aus. Das Erythrozytenstroma reicht bis an die parasiteneigene Grenzmembran heran. Die Elementarmembran umschließt das Babesienzytoplasma, das lockerer strukturiert ist, als dies bei anderen Babesienarten beschrieben wird. Im Erregerzytoplasma liegen unregelmäßig verteilt freie Ribosomen. Die Schläuche des endoplasmatischen Retikulums liegen zwischen äußerer Kernmembran und der Zytoplasmamembran. Stellenweise sind die Membranen des ER mit Ribosomen besetzt. In Richtung auf den Zellkern hin bildet das ER mitunter vakuolenartige Gebilde, sogenannte "whorled-organells oder coiled-bodies", die einen zwiebelschalenartigen Membranenaufbau besitzen.

Unregelmäßig über das Zytoplasma verteilt können in manchen Parasiten Mitochondrien beobachtet werden. Ihre Größe ist sehr unterschiedlich. Sie sind von zwei Elementarmembranen umgeben und treten in Ein- oder Mehrzahl im Erreger auf. Tubuli oder Cristae mitochondriales wurden nicht beobachtet. Subpellikuläre Mikrotubuli kommen gleichfalls an verschiedenen Stellen im Zytoplasma zur Darstellung. Je nach Schnittebene stellen sie sich als elektronendichtere Körperchen dar oder zeigen im Längsschnitt Schlauchform.

Ein Großteil der Trophozoiten weist Invaginationen auf.



Abb. 1: Babesia canis-Trophozoit; x 60.000

In den gedruckten Exemplaren (DIN A 5) sind
alle Vergrößerungsangaben um 30 % zu verringern.



Abb. 2a: *Babesia canis*-Merozoit mit ausgeprägtem Apikalkomplex; x 60.000

Abb. 2b: Zwischen Nukleus und Apikalkomplex gelegener Golgi-Apparat eines Merozoiten; x 120.000

Abb. 2c: Pellikularkomplex eines Merozoiten; x 90.000

Ihr Inhalt besteht aus Erythrozytenstroma. Die Zellkerne der Trophozoiten, deren Lage nicht konstant ist, wird gegen das Babesienzytoplasma durch eine Doppelmembran mit dazwischen liegendem Kernspalt abgegrenzt. Die Kernmembran weist deutliche Kernporen auf. Der Kern besitzt ein feingranuliertes Chromatingerüst. Bisweilen lassen sich im Kern elektronendichtere Körperchen auffinden.

Die Merozoiten (Tochterzellen) besitzen als eines ihrer Charakteristika eine dünne äußere Elementarmembran und eine darunter liegende, dickere, mehrfach unterbrochene, doppelblättrige Innenmembran (Abb. 2a, 2c). Zwischen den Membranblättchen liegt eine elektronenoptisch hellere Zone. Im Gegensatz zu den zumeist runden bis ovalen Trophozoiten haben die Merozoiten ovale bis piriforme Gestalt (Abb. 2a).

Ihr Zytoplasma ist von gleicher Beschaffenheit, wie dasjenige der Mutterzellen. Wie bei allen anderen Babesien-species differenzieren sich die jungen Babesia canis-Merozoiten allmählich zu Trophozoiten. Die Übergänge sind fließend. Mutterzellstrukturen werden deshalb auch in reiferen Merozoiten gefunden.

Am apikalen Pol ihres Zelleibes verbreitert sich der intermembranöse Spalt der doppelwandigen Membranen. Er bildet sich in Form einer Kappe aus, die mit der darüber liegenden Elementarmembran den Polring ausmacht. Weiterse befinden sich am Apex Rhoptrien, die sich durch eine hohe Elektronendichte auszeichnen. Sie münden mit ihren weiten Halsteilen in den apikalen Pol ein. Als weitere Gebilde des Intratoriums werden zahlreiche Mikronemen beobachtet.

Das ER der Merozoiten bildet, wie in den Trophozoiten, zisternenartige Strukturen. Ribosomen kommen gleichfalls unregelmäßig verteilt, frei und an den Membranen des ER haftend, im Zytoplasma vor. Mitochondrien werden in geringerem Maße als in Trophozoiten angetroffen.

Gleich in der Nachbarschaft des Zellkerns - zwischen diesem und dem apikalen Pol - befindet sich ein typischer Golgi-Apparat (Abb. 2b), der aus zahlreichen glatten und unregelmäßig geformten Bläschen und Schläuchen aufgebaut ist. Der Zellkern in den Merozoiten hat eine konstante Lage. Zumeist liegt er im hinteren Drittel des Parasiten. Sein Membransystem ist dem der Trophozoiten gleichartig gestaltet. Seitlich und oberhalb des Nucleus liegt ein sphärischer Körper, den eine einfache Membran umschließt. Sein Inhalt ist von elektronendichter, leicht blasiger Struktur.

Multilamelläre Strukturen, einfache Vesikel und Vakuolen mit elektronendichtem Inhalt wurden auch bei Merozoiten häufig beobachtet. Bei einigen sehr frühen Merozoitenformen (Intermediärformen, Abb. 3) befindet sich am hinteren Pol als Anhängsel die stark verkleinerte, geschrumpfte, strukturarme Mutterzelle, die leicht als solche anhand des einfachen Plasmalemmas identifiziert werden kann. Die Formen zeigen fast alle Charakteristika der Merozoiten.

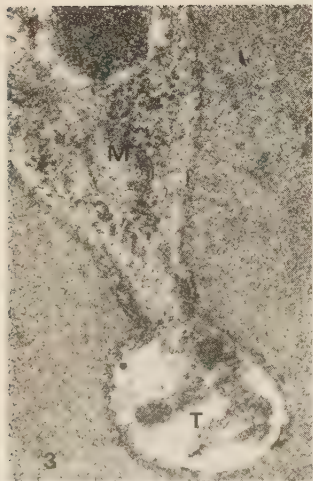


Abb. 3:

Babesia canis-Intermediärform
mit anhängendem Trophozoiten-
rest; x 60.000

3. . Ultrastruktur von *B. canis* nach Therapie mit Oxopirvedine^R

Nach Behandlung der Parasiten mit Oxopirvedine^R weisen Trophozoiten, Merozoiten und intermediäre Formen bereits nach einer Stunde mikromorphologische Veränderungen auf. Das Membransystem ist unverändert. Der intermembranöse Spalt der Merozoiten, zwischen der Elementarmembran und der doppelblättrigen Unterstützungsmembran, verbreitert sich geringgradig (Abb. 4). Der perinukleäre Raum dehnt sich von 160 Å vor Therapiebeginn auf 250 Å aus. Zwei Stunden nach Applikation lockert sich das Babesienzytoplasma auf. Es nimmt schaumige Beschaffenheit an. Das schlauchförmige ER läßt ab der vierten Stunde Ballonierungserscheinungen (Abb. 5) erkennen. Die Membranen zeigen beginnende Destrukturierungserscheinungen. Am stärksten betroffen sind die Zellkernmembranen. Die parasiteneigenen Grenzmembranen zeigen keine Veränderungen. Sechs Stunden p. applicationem sind die Kernmembranen nur noch andeutungsweise sichtbar. Das ER verschwindet fast vollkommen.

Die Doppelmembranen der Mitochondrien weisen nach 12 Stunden Lücken und Zerreißungen (Abb. 6) auf. Ihre Lumina nehmen am Umfang zu. Etwa zur gleichen Zeit setzt der Abbau der Außenmembranen ein. Der Abstand zwischen Elementarmembran und Unterstützungsmembran vergrößert sich von 200 Å auf 300 Å. Die Membranspalten der unterlagerten, dickeren, doppelblättrigen Unterstützungsmembran der Merozoiten klaffen weiter (350 Å) auseinander. Die Desorganisation des Babesienzytoplasmas schreitet fort. Die im Zytoplasma liegenden, frei verteilten Ribosomen aggregieren und erreichen eine Größe von durchschnittlich 150 Å. Die Strukturen der Zellkerne verbleiben unverändert. Nach 24 Stunden können stellenweise noch Parasitenaußenmembranen zur Beobachtung gelangen. Das übrige Membransystem ist einer vollkommenen Auflösung unterworfen.

Das Erregerzytoplasma unterliegt, bis auf die Ribosomen, heftigen Abbauvorgängen. Zellorganellen sind kaum mehr auszumachen. Bis zu 24 h können neben Zellen mit den oben beschriebenen Veränderungen, noch vereinzelt Babesien zur Darstellung gelangen, die bis auf geringgradige Abweichungen dem beschriebenen Bild der Kontrollaufnahmen entsprechen.

Am Ende der elektronenoptischen Untersuchungen zur Zellmorphologie nach 48 h sind absolut intakte Zellen in keinem Falle mehr sichtbar. Dies gilt besonders für das Membransystem. (Abb. 7)



Abb. 4: Teilungsform von *Babesia canis*, 60 Min. nach Oxopirvedinebehandlung, mit sphärischem Körper und ausgeprägtem, leicht erweiterten Pellikular-komplex (Pfeile); x 60.000



Abb. 5: Trophozoit von *Babesia canis*, vier Stunden nach Oxopirvedinebehandlung, mit balloniertem ER und noch unverändertem Mitochondrium; x 60.000

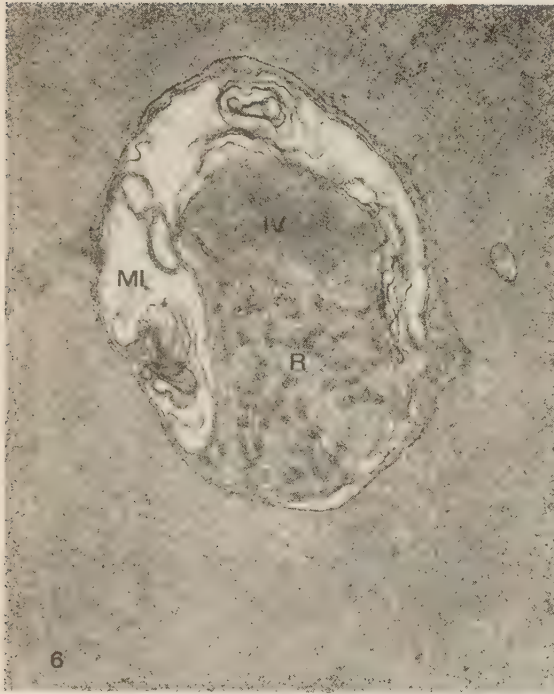


Abb. 6: Trophozoit, zwölf Stunden nach Oxopirvedinebehandlung;
stark balloniertes Mitochondrium mit Membranauflösung
sowie Ribosomenaggregationen; x 60.000

Vom Erregerzytoplasma bestehen schließlich nur mehr vergrößerte Ribosomen. Das Karyoplasma jedoch scheint nur sehr geringen Abbauvorgängen unterworfen zu sein. Die äußere Form der Babesien wird kaum geändert. Selbst nach 48 h kann man die Zellen ihrer Gestalt nach noch in Trophozoiten und Merozoiten grob einteilen. Das die Invaginationen ausfüllende Erythrozytenstroma, zeigt genau wie das die Parasiten umschließende keinerlei ultrastrukturelle Veränderungen. Dies gilt für den gesamten Versuchsverlauf und in analoger Weise auch für die Berenil^R-Behandlung.

4. Ultrastruktur von Babesia canis nach Behandlung mit Berenil^R

30 Min. nach der Therapie waren noch keine morphologischen Veränderungen sichtbar. Die ersten Schädigungen an den Babesien traten nach 45 Min. auf. Wie nach Oxopirvedine^R-Behandlung betraf dies zuerst den Kernspalt. Er verbreiterte sich von 170 Å auf 300 Å (Abb. 8).

Trophozoiten und Merozoiten waren zum gleichen Zeitpunkt in unterschiedlichem Ausmaß betroffen. Im Gegensatz zur Therapie mit Oxopirvedine^R vergrößerte sich der Zellmembranspalt der Merozoiten noch nicht.

Das Babesienzytoplasma zeigt nach 8 h eine granuliert Beschaffenheit. Die Kernmembranen und das (ER)endoplasmatische Retikulum zeigen eine fortschreitende Auflösung. Im gleichen Ausmaß wie nach Therapie mit Oxopirvedine^R sind sie jedoch nicht betroffen. Die fast gänzliche Auflösung der Membranen tritt zu einem späteren Zeitpunkt ein. Selbst nach 18 h und nach 30 h lassen sich stellenweise intakte Membransysteme erkennen. Die Ribosomen zeigen sich wie nach Oxopirvedine^R-Gabe in aggregiertem Zustand.



Abb. 7: Merozoiten von *Babesia canis*, 48 Stunden nach Oxipir-
vedinebehandlung; balloniertes ER, zerstörtes Membran-
system, gut erhaltener Apikal- und Pellikularkomplex
in unveränderten Wirtserythrozyten, x 60.000



Abb. 8: Trophozoit von *Babesia canis*, eine Stunde nach Berenilbehandlung, mit erweitertem Kernspalt bei gut erhaltenem Kernplasma; x 60.000

Die Mitochondrien verbleiben lange unverändert. Nach 48 h sind nur noch Fragmente des Plasmalemma sichtbar. Sie erscheinen streckenweise ganz aufgelöst (Abb. 9). Elektronenleere Bereiche zeigen die Räume auf, an denen die Membranen die Zelle oder ihre Organellen begrenzten (Abb. 10). Die Anzahl der intakten Parasiten ist größer, als dies nach Oxopirvedine^R-Gabe zu beobachten war. Die Desorganisation des Zytoplasmas vollzieht sich in einem ähnlichen Rahmen wie bei den Versuchen mit Oxopirvedine^R.

Wurde hier kaum eine Destrukturierung des Zellkerninhaltes angetroffen, so unterliegt das Karyoplasma nach Berenil^R-Behandlung stärkeren Abbauvorgängen. Es stellt sich elektronenlichter dar. Zytoplasmagebilde verschwinden gegen Ende der Versuchsdauer bei Berenil^R und Oxopirvedine^R vollkommen. Die Organellen des Intratoriums erfahren durch beide Chemotherapeutika keine Veränderung. Die Form der heftig geschädigten Zellen ändert sich kaum, so daß sie ihrer Gestalt nach als Trophozoiten oder Merozoiten identifizierbar bleiben.

Teilungsstadien trifft man zu jedem Zeitpunkt an. Dies ist nach Oxopirvedine- und Berenilbehandlung gleichermaßen zutreffend (Abb. 4 und 9). Merozoiten werden am Ende der Beobachtungszeit häufiger angetroffen als Trophozoiten. Die unterschiedlichen Einbettungen mit Durcupan - ACM (Fluka) und dem Einbettungsmedium nach SPURR (1969) weisen sowohl für Oxopirvedine^R, als auch für Berenil^R gleichartige Ergebnisse auf.



Abb. 9: Intermediärform von *Babesia canis*, 24 Stunden nach Berenilbehandlung; dilatiertes Mitochondrium sowie Vergrößerung und Aggregationen der Ribosomen; x 60.000



Abb. 10: Trophozoit von *Babesia canis*, 48 Stunden nach
Berenilbehandlung; totale Auflösung aller Membranen;
x 60.000

IV. Besprechung der Ergebnisse

Das Hauptinteresse dieser Arbeit besteht in der genauen Beschreibung der Trophozoiten und Merozoiten von *Babesia canis* vor und nach der Behandlung mit Oxopirvedine^R und Berenil^R. Die Ergebnisse werden anhand der Literatur elektronenoptischer, klinischer und chemotherapeutischer Untersuchungen verglichen.

Als Versuchstiere für die Versuchsgruppe 2 dienten Beagle-Hündinnen, die weder vor noch während des 48-stündigen Versuchsverlaufes medikamentell behandelt wurden. Um biologisch gleichartige Voraussetzungen zu schaffen, wählten wir Tiere gleicher Rasse, gleichen Geschlechts und Alters aus. Die Virulenz des Erregers steigerten wir durch schnell aufeinanderfolgende Passagen. Auf die in der Protozoologie vielfach verwendete Methode der Splenektomie verzichtete ich, um naturgegebene Verhältnisse zu gewährleisten. Dieses steht im Gegensatz zu den Versuchsanordnungen von HEBEL und DENNIG (1969), GÖBEL und DENNIG (1976) an *Babesia herpailuri* der Hauskatze nach Behandlung mit Berenil^R und Imizol^R an entmilzten Tieren. Eine weitere Besonderheit dieser Arbeit ist es, daß die Wirksamkeit und der Wirkungsmechanismus von Oxopirvedine^R und Berenil^R bei geringer und hoher Parasitämie überprüft wurden. Dies geschah, um ein etwaiges Vorhandensein einer ausgeprägten Widerstandsfähigkeit der Merozoiten gegenüber Chemotherapeutika leichter darstellen zu können. Der Mindestausgangswert bei einer niedrigen Parasitämie betrug 100%, um das Auffinden der Erreger im Elektronenmikroskop nicht unnötig zu erschweren.

Die klinischen Symptome unserer Versuchstiere wichen nur geringgradig von den Angaben in der Literatur ab.

Ulzeröse Keratitiden und eitrige Konjunktivitiden, wie sie CRESTIAN und CLERC (1974) beschrieben, wurden bei einigen der Kontrollhunde (Gruppe 1) sichtbar. Dies gilt auch für die von BOTHA (1964) und REUSSE (1954) aufgeführten zentralnervösen Störungen, die mit Ataxien verbunden waren und mitunter zu paretischen Erscheinungen an den Extremitäten führten. Die unter anderem von JACQUIN (1963) zur Beschreibung kommenden respiratorischen Formen mit Laryngobronchitis und Bronchopneumonie, die er als selten auftretende Erscheinungen anspricht, sah ich bei sechs Hunden. Die Augenform trat bei Tieren auf, die über einen längeren Zeitraum infiziert waren.

Durch schnelle Passagen gelang es, bei den Kontrolltieren die Präpatenzzeit von 11 Tagen auf 1 Tag herunterzudrücken. In der kurzen Präpatenzzeit dürfte die Ursache liegen, daß sich die Veränderungen an Kornea und Konjunktiva nicht manifestieren konnten. Die bronchopneumonischen Krankheitsbilder resultieren aus den rasch eintretenden Blutbildveränderungen, die mit denen von MAEGRAITH und M. (1957) beobachteten übereinstimmen, rasch absinkende Erythrozythenzahlen, Leuko- und Lymphopenie. Dadurch kommt es zu gestörten hämodynamischen Strömungsverhältnissen, so daß nichtentzündliche Lungenödeme entstehen können. Dies ließ bei der Auskultation die feuchten Rasselgeräusche hörbar werden. Desweiteren wird dadurch die Besiedelung der Lungen mit pathogenen Mikroorganismen begünstigt.

Schnittbilder von Trophozoiten zeichnen sich durch eine

Elementarmembran, locker strukturiertes Zytoplasma und über den gesamten Zelleib verteiltes zisternenartig geformtes ER aus. Letzteres ist jedoch nicht nur an der Peripherie gelegen, wie von BAYER und DENNIG (1961) sowie BÜTTNER (1968) dargestellt. Der Zellkern wird von der doppelten Kernmembran umgeben. Mitochondrien werden umschlossen von einer Doppelmembran. Die für Trophozoiten typischen großen Invaginationen werden bei *Babesia canis* in Analogie zu den Ergebnissen an *B. herpailuri* (GÜBEL und DENNIG, 1976) auch in hochdifferenzierten Merozoiten in geringer Anzahl und Größe gefunden. Dies deutet auf eine allmähliche Nahrungsaufnahme der Parasiten hin. Die Merozoiten besitzen das für sie charakteristische parasiteneigene Grenzmembransystem, eine dünne, einfache Elementarmembran und eine darunterliegende dickere, häufig unterbrochene Stützmembran. Weiter ist ihnen der Apikalkomplex, bestehend aus Polring, Rhoptrien, Mikronemen und sphärischen Körper (SCHOLTYSECK, MEHLHORN und FRIEDHOFF, 1970) eigen.

Babesienstroma, Mitochondrien, Vakuolen und Karyolemma verhalten sich wie bei den Trophozoiten. BÜTTNER (1968) hatte bereits von Trophozoiten und Teilungsstadien gesprochen, ohne die Tochterzellen als Merozoiten zu bezeichnen. Da in noch früheren Untersuchungen nicht zwischen der Verschiedenartigkeit der Zellen differenziert wurde, registrierte man unterschiedlichste Angaben hinsichtlich des Plasmalemmaaufbaues, eine Tatsache, die bei anderen Babesienarten gleichfalls zutrifft. Dies führte bei den beschriebenen Parasitenformen - Trophozoiten und Merozoiten - zu unklarer Grenzmembrandarstellung.

So sprechen BAYER und DENNIG (1961) von ein bis zwei Membranen. SIMPSON und M. (1963) stellen das Vorhandensein von einer einfachen Membran, als auch die Beschreibung von Doppelmembranen bei *B. canis* in den Raum. Die Tatsache, daß sich Babesien in Ultradünnschnitten nur im Erythrozytenstroma vorfinden, ist eine Beobachtung, auf die andere Autoren gleichfalls verweisen. Da man in Blutaussstrichen die Parasiten auch extraerythrozytär antreffen kann, muß es sich um eine präparationsbedingte Ursache handeln. Die freien Zellen scheinen im Verlauf der Zentrifugationsvorgänge zerstört zu werden, so daß man sie im Elektronenmikroskop nicht zwischen den enggepackten roten Blutkörperchen antreffen kann.

BÜTTNER (1968) richtete sein Augenmerk auf die Darstellung der Organellen und des Membransystems von *B. canis*. Die Charakteristika des Intratoriums zeichnete er auf. Das von ihm aufgezeigte parasitenbegrenzende Membransystem konnte in seinem Aufbau auch von uns bestätigt werden. Seine und die hier dargestellten Ergebnisse zeigen das Außenmembransystem als andersartig strukturiert, als es RUDZINSKA (1976) ausführt. Sie beschreibt bei *Babesia microti* nur eine Grenzmembran. Lediglich im Moment der Invasion der Erreger in den Erythrozyten spricht sie vom Vorhandensein von zwei Membranen. Wir konnten sogar sowohl bei jungen als auch bei differenzierten Merozoiten den komplexen Membranaufbau darstellen, so daß m. E. die Darstellung des Membransystems eine Spezifität für *B. microti* sein muß. Die elektronenoptische Präparation der Proben in der Arbeit von BÜTTNER (1968) und in meinen Untersuchungen vollzogen sich gleichermaßen. Bei BÜTTNER (1968) fehlt das reichhaltige ER-Membransystem

im Babesienstroma, das in den vorliegenden Abbildungen zu erkennen ist. Daraus resultiert eine lockere Strukturierung des Zytoplasmas, gleichwohl in unseren Darstellungen das Erregerstroma elektronenlichter ist, als dies für andere Babesienarten zutrifft. Ein sphärischer Körper wurde bislang für *B. canis* nicht beschrieben. Ein Golgi-Apparat, den RUDZINSKA (1976) an *B. microti* aufzeigt, wird in Merozoiten von *B. canis* gleichfalls gefunden.

Die Chemotherapeutika Oxopirvedine^R (Spēcia) und Berenil^R (Hoechst) wurden Anfang der 50er Jahre bei Trypanosomenerkrankungen der Haus- und Wildtiere eingesetzt. Später dehnte man ihren Anwendungsbereich auf Babesieninfektionen aus. Mittlerweile wird ihr Einsatz zur Bekämpfung von Trypanosomenerkrankungen des Menschen beschrieben (MARKELL und VOGE, 1971; MAEGRAITH und GILLES, 1971). Dies bedarf eines besonderen Hinweises, als SKRABALO und DEANOVIC (1957) sowie FITZPATRICK und M. (1968, 1969) bei an *B. bovis* und *B. divergens* erkrankten, splenektomierten Menschen tödlich verlaufende Infektionen beschreiben.

Die Meinungen über ihre dauerhafte Wirksamkeit gehen auseinander. FOWLER und M. (1972) weisen lediglich auf die klinische Heilung hin, eine sterilisatio magna konnten sie nicht erzielen. BAUER (1967) beschreibt diese für Berenil^R bei Dosierung von 10 mg/Kg/Kgw. BARNETT (1965) zitiert sie für Pirvedine^R, nicht aber für Berenil^R. Die eigenen Ergebnisse zeigen, daß die firmeneigenen Dosierungsangaben lediglich zu einer klinischen Heilung führen und Rezidive nicht verhindern.

Ultrastrukturelle Veränderungen von *B. canis* nach Oxopirvedine^R- und Berenil^R-Gaben zeichneten sich bereits nach 1 h bzw. 45 Min. ab. Verbreiterung des Kernspaltes, schaumige Beschaffenheit des Zytoplasmas, Aufblähung der Mitochondrien (HOWELLS u. M., 1970) und die Aggregierung der Ribosomen, die POWERS u. M. (1976) bei *Plasmodium knowlesi* nach Therapie mit Clindamycin beschreiben, lassen sich aus den Ergebnissen der Untersuchungen von HEBEL und DENNIG (1969) gleichfalls ersehen. In der vorliegenden Arbeit trifft dies nach Applikation beider Therapeutika zu. Durch die Schädigung der RNS-haltigen Ribosomen, die zur Eiweißbildung beitragen, und die Alterationen an den als Enzymträger am Stoffwechsel der Zellen beteiligten Mitochondrien (NEWTON, 1971) werden die Stoffwechselaktivitäten der Babesien zumindest beeinträchtigt. Die stetig fortschreitende Auflösung des Membransystems ist die folgenreichste sichtbare Veränderung. Nach Oxopirvedine^R-Therapie sind sie bei früheren Stundenwerten als nach Berenil^R-Gabe anzutreffen. Das Plasmalemma unterliegt den Abbauprozessen zuletzt. Die Merozoiten erweisen sich als widerstandsfähiger als die Trophozoiten. Dies kann im Aufbau ihres Außenmembransystems begründet sein. Andererseits trifft man selbst bei hohen Stundenwerten noch intermediäre Zellen an, so daß es sich bei den dargestellten Merozoiten um junge Erreger handeln kann, die der Wirkung der Medikamente nur kurze Zeit unterlagen.

HEBEL und DENNIG (1969) kamen in ihren Untersuchungen

an *B. herpailuri* nach Berenil^R-Behandlung zu ähnlichen Ergebnissen.

Unterschiede bestehen nur in bezug auf den zeitlichen Ablauf, Auflösung des Karyoplasmas und die von mir beobachtete größere Widerstandsfähigkeit der Merozoiten. Die von ihnen beschriebenen schneller ablaufenden Zerstörungen an den Babesien sehe ich in Zusammenhang mit der angewandten Berenildosis von 10 mg/Kg/kgw. Sie lag damit um fast 2 1/2 mal höher als in meinen Versuchen. Die Überprüfung der Wirkungsmechanismen von Imidocarb, einem weiteren aromatischen Diamidin, durchgeführt von GÖBEL und DENNIG (1976), weist vergleichbare Ergebnisse lediglich zu Beginn der Schädigungen auf. Zuerst wird die Verbreiterung des Kernspaltes beschrieben. An Trophozoiten geschah dies nach 1 h, an Merozoiten nach 6 h. Auflösung der Membransysteme kommen nicht zur Darstellung. Hier zeigt sich vielmehr eine Ausweitung des Kernspaltes, der Schläuche des endoplasmatischen Retikulums und die Aufblähung der Mitochondrien. Ein weiterer Unterschied zu meinen Betrachtungen besteht in der Zerstörung des Apikalkomplexes, der sich nach Oxopirvedine^R- und Berenil^R-Therapie nicht vollzog, und in dem unterschiedlichen zeitlichen Eintritt der Zellschädigungen. Nach Acaprin^R-Behandlung, einem Chinolinderivat, an der gleichen Babesie (DENNIG und HEBEL, 1974) resultieren zuerst Kernveränderungen, die auf das Membransystem übergreifen. Da DENNIG und HEBEL (1974) sowie HEBEL und DENNIG (1969) nicht zwischen Trophozoiten und Merozoiten differenzieren, lassen sich Vergleiche hinsichtlich eines unterschiedlichen Wirkungsbeginns nicht anstellen. Allen vorliegenden Arbeiten

ist als erstes Charakteristikum der Schädigungen die Verbreiterung des Kernspaltes gemein. NEWTON (1971) führt bei Berenil^R die hohe Affinität zur Kernnukleinsäure an und sieht zuerst eine Bindung des Berenil^R im Zellkern. Durch Alteration am Nucleus werden die osmotischen Gleichgewichtsverhältnisse in der Zelle gestört. Es kommt zum Übertritt von Kernflüssigkeit zwischen die Kernmembranen. Die Spatia dehnen sich auf den Druck hin aus. Die nachfolgenden Auflösungen der innerzellulären Membranen bedingen die Aufhebung der osmotischen Regelprinzipien. Durch die Beladung des Erregers mit dem Chemotherapeutikum gerät der Parasit in einen hypotonischen Zustand. Das Plasmalemma verhält sich fortan wie eine semipermeable Membran. Um das Druckgefälle auszugleichen, dringt weitere Flüssigkeit in die Babesien ein. Daraus resultieren die in allen Arbeiten beschriebenen Aufblähungen der Organellen. Das Membransystem wird durch den Innendruck und die nicht mehr vorhandenen Regenerierungsprozesse, aufgrund der aufgehobenen Stoffwechselaktivitäten, zerstört.

Die von mir festgestellte intermittierende Parasitämiekurve bei allen Hunden bis zu 36 Stunden nach der Therapie steht im Einklang mit der elektronenoptisch dargestellten besseren Erhaltung der Merozoiten. Es zeigt sich, daß diese sowie auch die noch an Mutterzellresten hängenden Intermediärzellen vermutlich dank ihres geringen Stoffwechsels sowie ihres komplexen Membranaufbaues den Chemotherapeutika gegenüber widerstandsfähiger sind. Bei hoher Dosierung kommt es, wie die Ergebnisse von HEBEL und DENNIG (1969) zeigen, aufgrund einer irreversiblen Zellvergiftung auch bei diesen Zellen zur endgültigen sterilisatio

magna. Die Ergebnisse von GÜBEL und DENNIC (1976) dagegen lassen den Schluß zu, daß es bei Dosierungen von 2 mg/Kg/Kgw. Imidocarb zur klinischen Heilung, aber offenbar nicht zu bleibenden Merozoitenschädigungen kommt. Zumindest in einem Teil der Tochterzellen vollzieht sich unverzüglich die weitere Transformation zum Trophozoiten. Die in der Zwischenzeit in Gang gekommene zelluläre Abwehr des Wirtes ergibt mit verbleibenden Babesien eine Prämunität. Aus diesen Gegebenheiten resultiert schließlich eine mehr oder weniger gute prophylaktische Wirkung der verwendeten Medikamente. Die neben der Durcupan-Einbettung angewandte Einbettungsmethode nach SPURR (1969), mit einer niedrigen Viskosität auf Kunststoffharzbasis, sollte die Ergebnisse bestätigen. Wenn auch die unbehandelten Babesien keine verbreiterten Membranspalten zeigen, so muß doch bei den behandelten Zellen und den dabei auftretenden großen Membranspalten an eine Artefaktbildung gedacht werden. Dies konnten wir jedoch durch zwei verschiedenen visköse Medien und die dabei erzielten gleichen Ergebnisse ausschließen.

V. Zusammenfassung

Die Mikromorphologie von *Babesia canis* im Blut von 4 Beagle-Hündinnen wurde vor und nach Behandlung der Tiere mit den Babesiciden Oxopirvedine^R (Specia) und Berenil^R (Hoechst) dargestellt.

Die Morphologie der unbehandelten Parasiten unterscheidet sich nicht von der anderer Babesienspezies. Aufgrund bestimmter Charakteristika kann leicht zwischen Trophozoiten (einfaches Plasmalemma, große Invagination und Fehlen des typischen Intratoriums), Merozoiten (Plasmalemma mit ihr unterlagerter Stützmembran, piriforme Gestalt, -aus Rhoptrien, Mikronemen, sphärischem Körper sowie Polring bestehendem Intratorium, Fehlen großer Invaginationen) und intermediären Formen (Merozoiten mit anhängendem Trophozoiten-Rest oder zu Trophozoiten hin entwickelten Merozoiten) differenziert werden. Es wurden erstmals Vorkommen und Lage eines Golgi-Apparates beschrieben.

Die Zellveränderungen an *Babesia canis* nach Berenilbehandlung beginnen bereits 45 Minuten nach der Therapie, mit Oxopirvedine^R nach 60 Minuten. Beide Präparate bewirken dieselben Schäden an den Parasiten. Beginnend mit Verbreiterung des subpelliculären endoplasmatischen Retikulums sowie der intermembranösen Spalten im Plasmalemma und der Kernmembranen kommt es drei Stunden nach der Therapie mit beiden Medikamenten zu deutlichen Ribosomenaggregationen. In fortschreitender Menge unterliegt das Zytoplasma einer allmählichen Desorganisation. Die Mitochondrien zeigen als stoffwechselaktive Zellen mit Aufblähungen und schließlichem Zerfall die schwerwiegendsten Veränderungen. Das Karyoplasma sowie

die Organellen des Intratoriums der Merozoiten bleiben erhalten. Die Parasitenmembranen der jungen Merozoiten stellen sich gegenüber beiden Therapeutika als besonders widerstandsfähig heraus.

Am Ende des Verfolgungszeitraumes von 48 Stunden kommen nur zerstörte Trophozoiten und teilweise geschädigte Merozoiten vor. Als Interpretationshilfe für die elektronenoptisch erhobenen Befunde wurde der klinische Verlauf der Babesiose herangezogen. Daraus und nach Diskussion mit den Ergebnissen anderer Verfasser ergibt sich eine größere Widerstandsfähigkeit der Merozoiten gegenüber den Chemotherapeutika.

Die Einbettung der Proben in Durcupan-ACM und in das "low viscosity Medium" nach SPURR brachten keine Unterschiede in der Mikromorphologie der Erreger.

Summary

The bloodform of Babesia canis in dog. Micromorphology of trophozoites, merozoites and intermediary forms before and after therapy unter Oxopirvedine^R and Berenil^R

The micromorphology of Babesia canis in the blood of female beagles was represented before and after the animals had been treated with the babesicides Oxopirvedine^(R) (Specia) and Berenil^(R) (Hoechst).

The morphology of the untreated parasites is not different from the other Babesia species. On the basis of certain characteristics, it is easy to differentiate between trophozoites (single plasmalemma, considerable invagination and lacking of the typical intratorium), merozoites (plasmalemma with an underlying supporting membrane, piriform shape, intratorium consisting of rhoptries, micronemes, a spherical body as well as a pole ring, lacking of considerable invaginations) and intermediary forms (merozoites with an appending trophozoite remainder or merozoites developed towards trophozoites). The existence and location of a Golgi-apparatus are described for the first time.

Cytomorphoses in Babesia canis under Berenil^(R) treatment start as early as 45' from the beginning of the therapy under Oxopirvedine^(R) after 60', both treatment preparations cause the same damage in the parasites. Starting with an enlargement of the subpellicular endoplasmatic reticulum as well as of the intermembranous spatia in the plasmalemma and the nuclear membranes,

marked ribosome aggregations occur under treatment with either of the medications three hours from the beginning of the therapy. The cytoplasm is subject to gradual disorganisation in a progressive quantity. The mitochondria as metabolism-active cells with distension and final disintegration show the most severe change. The karyoplasm as well as the organelles of the intratorium of the merozoites remain well conserved. The parasite membranes of the young merozoites reveal to be more resistant to both therapeutic agents.

At the end of the 48-hour period of observation, there are only destroyed trophozoites and partly damaged merozoites. The clinical course of babesiosis was used as an aid to interpret electronically obtained optical findings. From this and after discussion with the results of other authors, there is a higher resistance of the merozoites as compared with the chemotherapeutics.

Embedding of the samples in Durcupan-ACM and in Spurr's low-viscosity medium did not reveal any differences in the micromorphology of the parasites.

VI. Literaturverzeichnis

- Aeschlimann, A., M. Bossard, G. Quenet (1975): Contribution à la connaissance des piroplasmes de Suisse. Acta Trop. 32, 281-289.
- Aikawa, M. (1967): Ultrastructure of the pellicular complex of Plasmodium fallax. J. Cell. Biol. 35, 103-113.
- Bauer, F. (1955): Trypanosomen- und Babesienerkrankungen in Afrika und ihre Behandlung mit dem neuen Präparat Berenil^R. Z. Tropenmed. Parasit. 6, 129-140.
- Bauer, F. (1966): Zur Behandlung der Babesia canis-Infektion mit Berenil^R. Z. Tropenmed. Parasit. 17, 390-396.
- Bauer, F. (1967): Über die Behandlung von Babesien-Infektionen mit Berenil^R. Die Blauen Hefte 3, 7 - 13.
- Barnett, F.S. (1965): The chemotherapy of Babesia bigemina infection in cattle. Res. Vet. Sci. 6, 397 - 415.
- Bayer, E.M., H.K. Dennig (1961): Elektronenoptische Untersuchungen an Babesia canis. Z. Tropenmed. Parasit. 12, 28-35.
- Botha, H. (1964): The cerebral form of babesiosis in dogs. J. S. Afr. vet. med. Ass. 35, 27-28.
- Büttner, D. W. (1968): Vergleichende Untersuchungen der Feinstruktur von Babesia gibsoni und Babesia canis. Z. Tropenmed. Parasit. 19, 330-342.
- Crestian, J., B. Clerc (1974): Piroplasmose canine avec complication oculaire. Rec. Med. vét. Paris 150, 403-406.
- Dennig, H.K., R. Hebel (1969): Licht- und elektronenoptische Untersuchungen an zwei Babesia - Arten der Feliden. Z. Parasitenk. 32, 95-111.
- Dennig, H.K., R. Hebel (1974): Ultrastructural alterations of Babesia herpailuri. Following treatment with Acaprin^R. Proc. III. Int. Congr. Parasit. Munich 1, 61 -62.
- Doflein, F., E. Reichenow (1929): Lehrbuch der Protozoenkunde. G. Fischer - Verlag, Jena.

- Enigk, K., U. Reusse (1955): Berenil^R, ein neues Heilmittel für die Babesiosen der Haustiere. Z. Tropen-med. Parasit. 6, 141-150.
- Fay, F.H., L.R. Rausch (1969): Parasitic organisms in the blood of arvicoline rodents in Alaska. J. Parasit. 55, 1258 - 1265.
- Fitzpatrick, J.E.P., C.C. Kennedy, M. , Mc Geown et al. (1968): Human case of piroplasmosis (babesiosis). Nature 217, 361 - 862.
- Fitzpatrick, J.E.P., C.C. Kennedy, M., Mc Geown et al. (1969): Further details of third recorded case of red-water (babesiosis) in man. Brit. med. J. 4, 770 - 772.
- Flewett, H. T., J.D. Fulton (1959): The relationship of Babesia rodhaini to the host erythrocyte. Am. trop. Med. Parasitol. 53, 501 - 503.
- Fowler, L. J., D. M. Ruff, C.R. Fernau et al. (1972): Babesia gibsoni: Chemotherapy in dogs, Am. J. vet. Res. 33, 1109 - 1114.
- Fulton, J. D., T. H. Flewett (1956): The relation of Plasmodium berghei and Plasmodium knowlesi to their respective redcell hosts. Trans. Roy. trop. Med. Hyg. 50, 150 -156.
- Fußgänger, R., F. Bauer (1958): Berenil: Ein neues Chemotherapeutikum in der Veterinärmedizin. Medizin und Chemie 6, 504-531.
- Friedhoff, K., E. Scholtyseck (1968): Feinstrukturen von Babesia ovis (Piroplasmidea) in Rhipicephalus bursa (Ixodoidea). Transformation sphäroider Formen zu Vermiculaformen. Z. Parasitenk. 30, 347 - 359.
- Friedhoff, K., E. Scholtyseck, G. Weber (1972): Die Feinstrukturen der differenzierten Merozoiten von Babesia ovis in den Speicheldrüsen weiblicher Zecken. Z. Parasitenk. 38, 132 - 140.

- Garnham, P.C.C., J. Donnelly, H. Hoogstraal et al. (1969): Human babesiosis in Ireland: further observations and the medical significance of this infection. Brit. med. J. 4, 768 - 770.
- Göbel, E. (1976): Ultrastrukturelle Untersuchungen zur Morphologie und Topographie von Babesien (*B. musculi* und *B. herpailuri*) nach Gefrier-ätzung. Z. Parasitenk. 50, 207.
- Göbel, E., H.K. Dennig (1976): Die Ultrastruktur der Trophozoiten und Merozoiten von *Babesia herpailuri* in Erythrozyten der Hauskatze nach Behandlung mit Imidocarb (3,3'-bis-2-imidazolin - 2 - yl - carbanilid). Z. Parasitenk. 49, 97 - 112.
- Groves, G.M., J.A. Vanniasingham (1970): Treatment of *Babesia gibsoni* infections with phenamidine isethionate. Vet. Rec. 86, 8-20.
- Hebel, R., H. K. Dennig (1969): Licht- und elektronenoptische Untersuchungen an *Babesia herpailuri* nach Behandlung mit 4-4'-Diamidiono - Diazoamino - Benzol (Berenil^R). Z. Parasitenk. 33, 1-20.
- Honigberg, B.M., W. Balamuth, C.E. Bovee et al. (1964): A revised classification of the phylum protozoa. J. Protozool. 11, 7-20.
- Howells, R., W. Peters, J. Fullara (1970): The chemotherapy of rodent malarie. XIII. Fine structural changes observed in the erythrocytic stages of *Plasmodium berghei* following exposure to primaquine and menoctone. Ann. trop. Med. Parasit. 64, 203-207.
- Hoyte, D.M.H. (1966): Electron microscope studies of *Babesia bigemina*, with particular reference to its mode nutrition. Proc. 1st. Intern. Congr. Parasit. Roma (1964) Pergamon Press, Milano 1, 261-262.
- Jacquier, C. (1967): Piroplasmose canine - 5 observations cliniques. Schweiz. Arch. Tierheilk. 109, 58-65.

- Jacquier, C. (1973): Piroplasmose canine - Polymorphise clinique. Schweiz. Arch. Tierheilk. 115, 121-129.
- Jacquier, C. (1974): Piroplasmose canine, premier cas à Genève. Schweiz. Arch. Tierheilk. 116, 307-308.
- Jacquin, M. (1963): Contribution à l'étude de la symptomatologie et du diagnostic des formes atypiques de la piroplasmose canine. Thèse, D' - Alfort.
- Kirkham, W. W. (1969): The treatment of equine babesioses. J. S. Afr. vet. med. Ass. 155, 457 - 460.
- Kreier, P. J., S. M. Gravely, T. M. Seed et al. (1975): Babesia sp: The relationship stage of development to structure of intra-and extra-cellular parasites. Tropenmed. Parasit. 26, 9- 18.
- Langreth, G. S. (1976): Mechanisms in extracellular Babesia feeding in extracellular Babesia microti and Plasmodium lophurae. J. Protozool. 23, 215-223.
- Levine, N. D. (1961): Protozoan parasites of domestic animals and of man. Burgess Publ. Comp. Minneapolis.
- Levine, N. D. (1971): Taxonomy of the piroplasma. Trans-Am. Microscop. Soc. 90, 2 - 33.
- Mac Millan, G. W., D. W. Brocklesby (1971): The fine structure of intra - erythrocytic stages of Nuttallia (Babesia) microti. Res. vet. Sci. 12, 185 - 186.
- Maegraith, H. M., M. H. Gilles, K. Devacul (1957): Pathological processes in Babesia canis infections. Z. Tropenmed. Parasit. 8, 485 - 514.
- Maegraith, J. B., H. M. Gilles (1971) Management and treatment of tropical diseases. Blackwell Scientific Publications. Oxford and Edinburgh.
- Markell, E. K., M. Voge (1971): Medical Parasitology. W. B. Saunders Co. Philadelphia - London - Toronto.
- Meynard, A. J. (1963): Un nouveau médicament contre la piroplasmose canine ' la Pirvedine '. Cah. Med. Vet. 32, 22 - 25.

- Molyneux, H. D., J. M. Bafort (1970): The fine structure of *Babesia microti* in the natural host, *Microtus agrestis*. Z. Tropenmed. Parasit. 21, 393 - 401.
- Neitz, W. O., P. H. Steyn (1947): The transmission of *Babesia canis* to the blackbacked jackal (*Thos mesomelas*, Schreber) with a discussion on the classification of the piroplasms of the canidae. J. S. Afr. vet. med. Ass 18, 1 - 12.
- Newton, A. B. (1971): Further studies on the interaction of Berenil^R (Dimenazene) and related compounds with DNA. Trans Roy. Soc. trop. Med. Hyg. 65, 244.
- Piekarski, G. (1954): Lehrbuch der Parasitologie. Springer-Verlag.
- Regendanz, P., E. Reichenow (1933): Die Entwicklung von *Babesia canis* in *Demacantor reticulatus*. Arch. Protistenk. 79, 50 - 71.
- Reichenow, E. (1935/36): Übertragungsweise und Entwicklung der Piroplasmen. Zbl. Bakt. I. Abt. Orig. 135, 108 - 115.
- Reusse, U. (1954): Zur Klinik und Pathologie der Hundebabesiose. Z. Tropenmed. Parasit. 5, 451 - 468.
- Reynolds, E. (1963): The use of lead citrate at high pH as an electron opaque stain in electron microscopy, J. Cell. Biol. 17, 208 - 212.
- Rudzinska, A. M., W. Trager (1962): Intracellular phagotrophy in *Babesia rodhaini* as revealed by electron microscopy. J. Protozool. 9, 279 - 288.
- Rudzinska, A. M., W. Trager (1974a): The fine structure of intraerythrocytic merozoites of *Babesia microti*. J. Protozool. 21, 445 - 446.
- Rudzinska, A. M., W. Traeger (1974 b): Intraerythrocytic reproduction in *Babesia microti*: An electron microscope study. J. Protozool. 21, 446.
- Rudzinska, A. M. (1976): Ultrastructure of intraerythrocytic *Babesia microti* with emphasis on the feeding mechanism. J. Protozool. 23, 224 - 233.

- Ryley, J. R. (1957): The chemotherapy of Babesia infections. Ann. trop. Med. Parasit. 51, 38 - 49.
- Scholtyssek, E., H. Mehlhorn, K. Friedhoff (1970): The fine structure of the conoid of sporozoa and related organisms. Z. Parasitenk. 34, 68 - 94.
- Schoop, G. V., K. Dedié (1938): Übertragung von Babesia canis auf Füchse. Dtsch. tierärztl. Wschr. 45, 88 - 90.
- Seed, M. T., M. Aikawa, R. B. Prior et al. (1973): Plasmodium sp: Topography of intra- and extracellular parasites. Z. Tropenmed. Parasit. 24, 525 - 535.
- Shortt, H. E., J. E. Blackie (1965): An account of the genus Babesia as found in certain small mammals in Britain. J. trop. Med. Hyg. 68, 37 - 42.
- Simpson, F. C., C. E. Bild, H. E. Stolyer (1963): Electron microscopy of canine and equine babesia. Amer. J. vet. Res. 24, 408 - 418.
- Simpson, F. C., W. W. Kirkham, J. M. Kling (1967): Comparative morphologic features of Babesia caballi and Babesia equi. Amer. J. vet. Res. 28, 1693 - 1697.
- Skrabalo, Z., Z. Deanovic (1957): Piroplasmosis in man. Docum. Med. geogr. trop. 9, 11 - 16.
- Spurr, R. A. (1969): A low viscosity epoxy resin embedding medium for electron microscopy. J. Ultrastruct. Res. 26, 31 - 43.
- Weinmann, D., M. Ristic (1968): Infectious blood diseases of man and animals. Academic Press - New York and London.
- van der Walt, K. (1960): Report on a trial with M & B 5062 A in canine babesiasis. J. S. Afr. vet. med. Ass. 21, 261 - 264.

Lebenslauf

Am 15. November 1948 wurde ich als zweiter Sohn des Apothekers Dr. Walter Brengelmann und seiner Ehefrau Erika, geb. Wibbeling, in Langenberg/Rhld. geboren.

Nach dem Besuch der Volksschule und des neusprachlichen Gymnasiums in Langenberg im Rheinland legte ich am 6. 7. 1967 die Reifeprüfung ab.

Das Studium der Tiermedizin an der Tierärztlichen Fakultät der Universität München begann ich im Wintersemester 1967/68. Im Sommersemester 1974 schloß ich das Studium mit dem Staatsexamen ab. Anschließend an das Studium der Tiermedizin wurde ich zum Grundwehrdienst bei der Bundeswehr eingezogen.

Die Bestallung als Tierarzt erhielt ich am 28. Oktober 1974.

An dieser Stelle danke ich Herrn Professor
Dr. Dr. h.c. J. Boch für die freundliche
Überlassung des Themas und die mir gewährte
Arbeitsmöglichkeit am Institut.

Herrn Dr. E. Göbel möchte ich besonders herzlich
für seine wertvollen Anregungen danken
und für seine jederzeit gern gewährte Anleitung
bei der Anfertigung meiner Arbeit.

Frau H. Meyer sage ich meinen Dank für die
Unterstützung in allen technischen Fragen.

